Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 17, No. 4, Winter. 2020, p. 591-603

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۷، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۸، ص. ۶۰۳-۵۹۱

اثر تنش کم‌آبیاری و محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و اسید جاسمونیک بر برخی از متابولیت‌های ثانویه، عملکرد دانه و روغن ژنوتیپ‌های گلرنگ

فاطمه محتشمی[1]، محمودرضا تدین[2*]، پرتو روشندل[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۱۰

چکیده

به‌منظور بررسی تیمارهای کم‌آبیاری و محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک و اسید آسکوربیک بر میزان فنول کل، میزان فلاونوئید کل، فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، عملکرد دانه و عملکرد روغن ژنوتیپ‌های گلرنگ، آزمایشی به‌صورت طرح کرت‌های دو بار خرد شده در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد در بهار ۱۳۹۶ انجام شد. در این آزمایش سه سطح آبیاری (۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد نیاز آبی گلرنگ) به‌عنوان فاکتور اصلی و سه ژنوتیپ گلرنگ (محلی اصفهان، فرامان و سینا) به‌عنوان فاکتور فرعی و محلول‌پاشی با سه سطح شامل (شاهد، محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار و محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک با غلظت ۲۰ میلی‌مولار) به‌عنوان فاکتور فرعی فرعی انتخاب شدند. نتایج نشان داد که اثرهای اصلی تیمار کم‌آبیاری، ژنوتیپ و محلول‌پاشی بر تمامی صفات مورد بررسی در این پژوهش معنی‌دار شد. به‌طوری‌که بیشترین عملکرد دانه (۱۶۸۷ کیلوگرم در هکتار) و عملکرد روغن (۴۶۲ کیلوگرم در هکتار) مربوط به ژنوتیپ سینا و کمترین عملکرد دانه (۱۳۴۱ کیلوگرم در هکتار) و عملکرد روغن (۳۳۲ کیلوگرم در هکتار) مربوط به ژنوتیپ محلی اصفهان شد. نتایج نشان داد محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک میزان عملکرد دانه و روغن به‌ترتیب ۵/۹ و ۱۱/۵۳درصد در مقایسه با تیمار بدون محلول‌پاشی افزایش یافت. مقدار فنیل آلانین آمونیالیاز در ژنوتیپ سینا و تیمار آبیاری ۵۰ درصد نیاز آبیاری ۲۶/۱۸ درصد در مقایسه با تیمار ۱۰۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ و ژنوتیپ محلی اصفهان افزایش یافت. همچنین میزان فنول و فلاونوئید کل در ژنوتیپ سینا و تیمار ۵۰ درصد نیاز آبیاری به‌ترتیب ۵۰/۳۵ درصد و ۴۰/۲۳ درصد در مقایسه با ژنوتیپ محلی اصفهان و تیمار آبیاری ۱۰۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ افزایش یافت. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنول و فلاونوئید کل در اثر برهمکنش محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و تیمار ۵۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ ۱۰/۹۱ درصد، ۴۴/۳۹ و ۵۵/۳۲ درصد در مقایسه با تیمار بدون محلول‌پاشی و تیمار ۱۰۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ افزایش یافت. نتایج نشان داد که می‌توان با انتخاب ژنوتیپ و ترکیبات مناسب عملکرد دانه و روغن و اثرات دارویی گیاه گلرنگ را افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، فلاونوئید، فنول، فنیل آلانین آمونیالیاز

مقدمه

خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیر زنده ایجادکننده خسارت در گیاهان و به‌عنوان مهم‌ترین عامل محدودکننده رشد و تولید شناخته شده است (Fanaie *et al*., 2015). پژوهش‌ها نشان می‌دهند، اثر زمان تنش خشکی به اندازه شدت آن بر عملکرد گیاه اثر می‌گذارد. تنش خشکی در طول مرحله گلدهی، گرده‌افشانی و نمو دانه ممکن است تعداد دانه تشکیل شده را به شدت کاهش دهد (Sio- Se Mardeh *et al*., 2006). تحقیقات نشان داده که یکی از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار در میزان متابولیت‌های ثانویه موجود در گیاهان، تنش‌های محیطی اعمال شده بر آن‌هاست، این ترکیبات به گیاهان کمک می‌کنند تا بتوانند در مقابل شرایط نامساعد محیطی (مانند خشکی و یا شرایط نامساعد خاک) مقاومت کنند و به حیات خود ادامه دهند (Ramakrishna and Ravishankar, 2011).

استفاده از الیسیتورهایی با منشأ زیستی مانند (اسید جاسمونیک، اسید سالیسیلیک و اسید آسکوربیک) و یا غیر زیستی مانند (نمک و فلزات سنگین) از طریق القای پاسخ‌های دفاعی موجب بیوسنتز و انباشت متابولیت‌های ثانویه و کاهش اثرات نامطلوب تنش خشکی بر عملکرد اقتصادی گیاهان می‌شوند (Zaho *et al*., 2005).

الیسیتورهایی مانند جاسمونات‌ها و استر متیل آن‌ها گروه جدیدی دیگر از تنظیم‌کنندگان رشد گیاهان و از مشتقات اسید لینولنیک محسوب می‌شوند که از طریق مسیر بیوسنتزی اکتادکانوئید سنتز می‌شوند (Schaller, 2001). اسید جاسمونیک مهم‌ترین هورمون مقاومت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی است (Bari and Jones, 2009). این ترکیبات منجر به القای فعالیت آنزیم‌های ویژه‌ای می‌شوند که واکنش‌های بیوسنتزی مربوط به تولید ترکیبات دفاعی مانند پلی فنل‌ها، آلکالوئیدها و پروتئین‌های مربوط به میکروب‌های

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
۲- دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
۳- استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
(*- نویسنده مسئول: Email: Mrtadayon@yahoo.com)
DOI: 10.22067/gsc.v17i4.77709

بیماری‌زا را کاتالیز می‌کنند (Creelman and Mullet, 1995). گزارش شده است که کاربرد خارجی اسید جاسمونیک موجب افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدان مانند اسید آسکوربیک در گیاهان مختلف شده است و ممکن است که اسید جاسمونیک یکی از هورمون‌های گیاهی مؤثر در متابولیسم اسید آسکوربیک باشد (Chen *et al*., 2007).

اسید آسکوربیک یک مولکول کوچک و قابل حل در آب است که در گیاهان و حیوانات دیده می‌شود. بنابر پژوهش‌های انجام شده، این ماده نقش مهمی در حفاظت از گیاهان در برابر تنش‌های محیطی از قبیل کم‌آبی، فلزات سنگین و شوری دارد (Vwioko *et al*., 2008). مشاهده شده که کاربرد خارجی اسید آسکوربیک به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان می‌تواند اثرات زیان‌بار ناشی حاصل از تنش شوری را در گیاه کلزا (*Brassica napus*) کاهش دهد و سبب بهبود رشد گیاه و افزایش عملکرد دانه در شرایط تنش شوری در مقایسه با گیاهان شاهد شود (Dolatabadian *et al*., 2009). دانشمند (Daneshmand, 2014) گزارش کرد که کاربرد خارجی آسکوربات می‌تواند موجب افزایش محتوای ترکیبات فنلی در گیاه سیب‌زمینی شود. مطابق با نتایج هرناند و همکاران (Hernandes *et al*., 2004) میزان آسکوربات تحت شرایط تنش خشکی افزایش می‌یابد بنابراین این احتمال وجود دارد که آسکوربات به‌عنوان ترکیب محرک سنتز ترکیبات فنلی است.

مسیر اصلی بیوسنتز فنیل پروپانوئیدها از مسیر شیکمیک اسید (Shicmik acid) (مسیر بیوسنتزی آمینواسیدهای حلقوی مانند فنیل آلانین و تیروزین) شروع می‌شود. آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) یک آنزیم حد واسط بین متابولیسم‌های اولیه و ثانویه (فنیل پروپانوئید) است. فعالیت آنزیم PAL تحت تأثیر pH محیط قرار می‌گیرد، اسید آسکورربیک و اسید جاسمونیک با افزایش فعالیت آنزیم PAL، واکنش‌های مسیر فنیل پروپانوئید را تحریک کرده و باعث افزایش ترکیبات فنلی می‌شوند (Winkle-Shirley, 2001). متابولیت‌هایی که در نتیجه فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز به‌وجود می‌آیند به‌عنوان مشتقات فنلی طبقه‌بندی می‌شوند که شامل کومارین‌ها، اسانس‌ها، فلاوونوئیدها، لیگنین و تانن هستند. این ترکیبات در جهت درمان بیماری‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرند (Bagal *et al*., 2012).

گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius*)، بیشتر برای تولید دانه و استخراج روغن خوراکی کشت می‌شود، ولی در برخی کشورها از جمله چین و هند گل‌های آن در رنگ و طعم دادن به غذاها و تهیه رنگ پارچه استفاده می‌گردد و همچنین به دلیل کاربردهای دارویی متعدد کشت می‌شود (Asqarpanh and Kazemivash, 2013).

با توجه به اهمیت گیاه گلرنگ از نظر کاربردهای متنوع آن در صنایع روغن‌کشی، رنگرزی و مصارف دارویی به نظر می‌رسد، که افزایش عملکرد دانه در واحد سطح در کشور راهکار مناسبی برای دستیابی به افزایش تولید و بهبود اقتصاد آن باشد. در مقایسه با روش‌های به‌نژادی که اغلب بلندمدت و هزینه‌بردار هستند، استفاده از مواد شیمیایی شامل اسید آسکوربیک و اسید جاسمونیک آسان‌تر و ارزان‌تر است. تاکنون در ارتباط با جنبه‌های فیزیولوژی و بیوشیمیایی تنش خشکی تحت تاثیر جاسمونیک اسید و اسید آسکوربیک و بررسی روابط متقابل این صفات با عملکرد و میزان متابولیت‌های ثانویه گلرنگ نتایجی گزارش نشده است. از طرفی توصیه رژیم آبیاری مناسب گیاه گلرنگ با توجه به شرایط خشک و نیمه‌خشک کشور ضروری است. بنابراین هدف از این پژوهش بررسی تأثیر ترکیباتی مانند جاسمونیک اسید و آسکوربات در جهت مقاومت به تنش خشکی در ژنوتیپ‌های گلرنگ می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مزرعه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد (با طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۱ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۱۹ دقیقه شمالی و با ارتفاع ۲۰۵۰ متر از سطح دریا) طراحی و اجرا شد. جهت مطالعه اثر سطوح مختلف آبیاری روی عملکرد گلرنگ آزمایشی به‌صورت کرت‌های دو بار خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد در بهار ۱۳۹۶ اجرا گردید. فاکتور اصلی شامل سه سطح آبیاری (۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد نیاز آبی گلرنگ) که تیمارهای کم‌آبیاری گلرنگ از مرحله ۶ برگی اعمال شد و فاکتور فرعی آزمایش شامل سه ژنوتیپ گلرنگ (محلی اصفهان، فرامان و سینا) بود که از شرکت توسعه کشت گیاهان روغنی اصفهان تهیه شد. فاکتور فرعی فرعی مربوط به سه سطح محلول‌پاشی شامل (شاهد، محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک با غلظت ۰/۵ میلی مولار (Mahabub Alam *et al*., 2014) و محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک با غلظت ۲۰ میلی‌مولار بود. در این پژوهش با توجه به این‌که افزایش تعداد سطوح محلول‌پاشی با توجه به طرح آزمایشی اسپلیت- اسپلیت پلات موجب افزایش تعداد تیمارها در مزرعه می‌شد و کنترل مزرعه و تجزیه تحلیل داده‌ها و تفسیر نتایج پیچیده می‌شد، لیکن با توجه به بررسی پژوهش‌های مختلف در رابطه با گلرنگ غلظتی از اسید جاسمونیک و اسید آسکوربیک انتخاب شد که بیشترین تأثیر را در افزایش عملکرد دانه گلرنگ داشت و محلول‌پاشی دو مرتبه به فاصله یک هفته در مرحله گلدهی گلرنگ توسط سمپاش دستی تا زمان جاری شدن قطره‌های محلول مورد استفاده بر روی برگ‌های گیاه ادامه یافت. قبل از آماده‌سازی زمین، نمونه مرکبی از خاک مزرعه تهیه شده و جهت تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک به آزمایشگاه ارسال گردید نتیجه تجزیه خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه مورد مطالعه
Table 1- Some physical and chemical properties of field soil

Chemical properties					Physical properties
EC ($dS.m^{-1}$)	pH	%N	P ($mg.kg^{-1}$)	K ($mg.kg^{-1}$)	17% clay, 42% silt and 41% sand
1.1	7.7	0.09	7.1	296	Loam

هر کرت شامل نه خط کاشت به طول سه متر بود. فاصله بوته‌ها روی خط پنج سانتی‌متر و تراکم بوته در هر کرت ۴۰ بوته در متر مربع بود. کشت در اوایل اردیبهشت و پس از رسیدن رطوبت مزرعه به حد ظرفیت زراعی و تامین دمای پایه برای جوانه‌زنی بذرهای گلرنگ انجام شد. کلیه عملیات داشت شامل مبارزه با علف‌های هرز و آفات، سله‌شکنی به‌صورت دستی به‌موقع اجرا شد. تغذیه گیاه گلرنگ بر اساس توصیه آزمون خاک (کود پایه: ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار کود سوپر فسفات تریپل) و همچنین ۷۵ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص (از منبع کود اوره حاوی ۴۶ درصد نیتروژن خالص) در سه نوبت (نوبت اول زمان دو تا چهار برگی، نوبت دوم زمان ساقه‌دهی و نوبت سوم زمان گل‌دهی) بود.

آبیاری کرت‌های آزمایش تا قبل از اعمال تیمار کم‌آبیاری برحسب شرایط آب و هوایی و تخلیه رطوبتی خاک و براساس تخلیه آب سهل‌الوصول انجام شد. نیاز آبیاری گیاه بر پایه اندازه‌گیری تغییرات رطوبت خاک با دستگاه رطوبت‌سنج تتاپروب مدل SM300 و مطابق روش فرشی (Farshi, 2003) برآورد شد. با استفاده از این دستگاه میزان رطوبت خاک تعقیب شده و زمان رسیدن به حد رطوبت تخلیه مجاز (Management Available Deficit) مشخص گردید. تیمارهای ۷۵ و ۵۰ درصد به‌ترتیب به میزان ۷۵ و ۵۰ درصد آب مصرفی تیمار شاهد آب دریافت کردند. مقدار رطوبت MAD، طبق معادله (۱) محاسبه شد.

$$\Theta_{MAD} = \Theta_{FC} - (\Theta_{FC} - \Theta_{PWP}).\ MAD \qquad (۱)$$

دراین رابطه: Θ_{FC}= رطوبت حجمی در ظرفیت زراعی مزرعه (٪)، Θ_{PWP}= رطوبت حجمی در نقطه پژمردگی دائم (٪)، MAD= ضریب تخلیه مجاز.

میزان رطوبت حجمی در نقطه پژمردگی دائم در گیاه گلرنگ با توجه به بافت لوم خاک ۱۴ درصد است.

میزان ضریب تخلیه مجاز برای گیاه گلرنگ ۶۵ درصد است.

عمق مؤثر ریشه ۳۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد.

قبل از آبیاری از عمق (۰-۳۰ و ۳۰- ۶۰ سانتی‌متری) خاک نمونه‌برداری و جهت اندازه‌گیری رطوبت خاک به آزمایشگاه ارسال شد. قابل ذکر است که مقدار رطوبت خاک در حد فاصل رطوبت حجمی در ظرفیت زراعی مزرعه و نقطه پژمردگی دائم در بافت‌های مختلف خاک توسط فرشی (Farshi, 2003) در کتاب رابطه آب و خاک و گیاه نیز گزارش شده است.

زمانی‌که رطوبت خاک به حد پایینی رطوبت سهل‌الوصول (θMAD) رسید، عمق آب آبیاری بر اساس کمبود رطوبت خاک مطابق با معادله ۲ اعمال شد.

$$d = (\Theta_{FC} - \Theta_{soil}).\ D \qquad (۲)$$

$$V = d \times A \times 1000 \qquad (۳)$$

در این رابطه: d= عمق آب مورد نیاز (m)، D: عمق موثر ریشه گیاه (m)، Θ_{soil} رطوبت خاک پیش از آبیاری (m/m)، A سطح کرت (m^2)، V حجم آبیاری (L).

اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی

در این پژوهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از آزمایش بتا کاروتن- لینولئیک اسید به‌دست آمد. در این روش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، با میزان مهار اکسیداسیون لینولئیک اسید و جلوگیری از ایجاد ترکیبات فرار و هیدرو پراکسیدهای کونژوگه، مورد سنجش قرار گرفت. برای انجام آزمایش ابتدا یک محلول پایه از بتاکاروتن- لینولئیک اسید به‌صورت زیر تهیه گردید: ۰/۵ میلی‌گرم بتاکاروتن در ۱ میلی‌لیتر کلروفرم حل شد و سپس ۲۵ میکرولیتر لینولئیک اسید و ۲۰۰ میلی‌گرم توئین ۴۰ به آن اضافه گردید و کاملاً مخلوط شد. سپس با تبخیر در خلأ کلروفرم تبخیر گردید و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اشباع شده از اکسیژن (۳۰ دقیقه تحت فشار ۱۰۰ میلی‌لیتر در دقیقه) همراه با تکان شدید به آن اضافه شد. ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده فوق به لوله آزمایش منتقل شد و ۳۵۰ میکرولیتر از عصاره (غلظت ۲ گرم در لیتر در اتانول) به لوله آزمایش اضافه گردید. تمامی این مراحل در مورد بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن به‌عنوان شاهد مثبت و بلانک (فقط حاوی ۳۵۰ میکرولیتر اتانول) انجام شد. بعد از ۴۸ ساعت گرم‌خانه‌گذاری در دمای اتاق، جذب نوری نمونه‌ها در ۴۹۰ نانومتر قرائت گردید و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، از مقایسه جذب نوری نمونه‌ها با زمان صفر و از روی میزان پایداری رنگ زرد بتا کاروتن به درصد مورد سنجش قرار گرفت (Kartal *et al*., 2007). به‌منظور عصاره‌گیری از روش تغییریافته چن و همکاران (Chen *et al*., 2007) استفاده شد. ۱۰۰ میلی‌گرم پودر گلبرگ در ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ با استفاده از امواج فراصوت تولید شده توسط دستگاه Ultrasonic (مدل WUC-D10H ساخت کره) با قدرت 40 kHz به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد عصاره‌گیری شد. سپس مخلوط فوق با سرعت 3000 rpm سانتریفوژ و روشناور برای سنجش خاصیت آنتی‌اکسیدانی جدا گردید.

میزان فنل کل بر اساس روش رنگ‌سنجی با استفاده از گالیک اسید به‌عنوان استاندارد اندازه‌گیری شد (Marrinova *et al*., 2005). سپس به ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره‌های گیاهی یا محلول‌های استاندارد (غلظت‌های $mg\ ml^{-1}$ ۱۰۰-۰ گالیک اسید (GAE) در آب مقطر) حدود ۱/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۲ میلی‌لیتر معروف فولین- سیو کالتیو رقیق (v/v ۱:۱۵) اضافه شد. بعد از ۵ دقیقه، با افزودن۳ میلی‌لیتر از محلول ۷٪ سدیم کربنات حجم مخلوط واکنش با آب مقطر به ۵ میلی‌لیتر رسانده شد و بعد از ۹۰ دقیقه نگهداری در دمای آزمایشگاه جذب آن‌ها در طول موج ۷۵۰ نانومتر تعیین و مقدار فنل کل از روی منحنی استاندارد بر حسب $mg\ GAE\ g^{-1}DW$ محاسبه شد (Marrinova *et al*., 2005).

میزان فلاونوئید کل با روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید اندازه‌گیری و ۰/۱ گرم از نمونه‌های گیاهی در ۱۰ میلی‌لیتر متانول عصاره‌گیری شد. به ۰/۵ میلی لیتر از عصاره حاصل، آب مقطر اضافه شد تا حجم ۵ میلی‌لیتر به‌دست آید. سپس به محلول حاصل۰/۳ میلی‌لیتر سدیم نیتریت ۵ درصد و پس از ۵ دقیقه، ۰/۶ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد اضافه گردید. در نهایت ۲ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم ۱ مولار و ۲ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و شدت جذب در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین به‌دست آمد (Ebrahimzade *et al*., 2008).

جهت اندازه‌گیری قعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز ۰/۵ گرم از بافت تازه گلچه گلرنگ توزین و در ۶/۵ میلی‌لیتر بافر تریس- هیدروکلریک ۵۰ میلی‌مولار (اسیدیته ۸/۸) که حاوی بتا مرکاپتو اتانول ۱۵ میلی‌مولار می‌باشد، ساییده شد و عصاره حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در g ۵۰۰۰ سانتریفوژ گردید. محلول رویی برای شناسایی استفاده شد. مخلوطی از یک میلی‌لیتر بافر استخراجی بالا، ۰/۵ میلی‌لیتر فنیل الانین ۱۰ میلی‌مولار، ۰/۴ میلی‌لیتر آب و ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره آنزیمی در حمام آب گرم ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده شد. سپس واکنش توسط ۰/۵ میلی‌لیتر کلریدریک اسید ۶ مولار متوقف گردید. در نهایت، به محلول حاصل ۱۵ میلی‌لیتر اتیل استات افزوده و فاز روغنی تشکیل شده جدا و باقی‌مانده در دمای آزمایشگاه قرار داده شد تا تبخیر شود. سپس باقی‌مانده، که همان سینامیک اسید است در ۳ میلی‌لیتر سود ۰/۰۵ مولار حل شد و غلظت سینامیک اسید با اندازه‌گیری میزان جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی $M^{-1}\ cm^{-1}$ ۹۵۰۰ به‌دست آمد. فعالیت این آنزیم بر اساس سرعت تبدیل فنیل آلانین به ترانس سینامیک اسید تعیین شد. یک واحد از فعالیت آنزیم فنیل الانین آمونیالیاز معادل ۱ میکرومول از سینامیک اسید تولید شده در یک دقیقه است (Wang *et al*., 2006). تجزیه واریانس صفات با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹) انجام گرفت و میانگین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از نرم‌افزار SAS مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس درصد بازدارندگی اسید لینولئیک تحت تأثیر اثرهای ساده تیمار کم‌آبیاری، ژنوتیپ، محلول‌پاشی و همچنین تحت تأثیر برهمکنش تیمار کم‌آبیاری × محلول‌پاشی قرار گرفت (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر تیمار کم‌آبیاری بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد که بیشترین (۹۳/۶۹ درصد بازدارندگی لینولئیک اسید) و کمترین آن (۶۶/۷۷ درصد بازدارندگی لینولئیک اسید) فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌ترتیب در تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ به‌دست آمد (جدول ۳). به‌طوری‌که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار ۵۰ درصد نیاز آبیاری ۲۸/۷۳ درصد در مقایسه با تیمار ۱۰۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ افزایش یافت (جدول ۳). آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی طبیعی شامل ترکیبات فنولی، بتاکاروتن، ویتامین‌های C و E هستند که در بخش‌های مختلف گیاه، اثر سودمندی روی جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد اکسیژن دارند. به‌طور کلی تنش‌های غیر زیستی مسیرهای درگیر در بیوسنتز دو گروه اصلی از متابولیت‌های ثانویه با ویژگی آنتی‌اکسیدانی، شامل ترپن‌ها و فنول‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند و موجب افزایش میزان فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌شوند (Mittler, 2004). سجادی و همکاران (Sajadi *et al*., 2012) گزارش کردند که تنش خشکی موجب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ژنوتیپ‌های گلرنگ شد. مطالعات متعددی حاکی از افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن تحت تنش خشکی گزارش شده است. بنابراین گیاهان جهت کاهش فعالیت گونه‌های فعال اکسیژن از طریق سازوکارهایی تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی را افزایش می‌دهند (Miller *et al*., 2010; Daneshmand, 2014).

در تیمار مربوط به ژنوتیپ‌های گلرنگ بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌ترتیب مربوط به ژنوتیپ سینا و فرامان و کمترین آن مربوط به ژنوتیپ محلی اصفهان بود به‌طوری‌که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ژنوتیپ سینا و فرامان به‌ترتیب ۱۲/۶۵ درصد و ۸/۶ درصد در مقایسه با ژنوتیپ محلی اصفهان بیشتر بود (جدول ۳). به‌نظر می‌رسد، تفاوت‌های ژنتیکی ژنوتیپ‌های گیاهی می‌تواند موجب تفاوت در میزان بیان ژن‌های تولیدکننده ترکیبات آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی شود و ژنوتیپی که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری داشته باشد به میزان بیشتری می‌تواند موجب کاهش فعالیت گونه‌های فعال اکسیژن شود و از این ویژگی گیاهان می‌توان در جهت گزینش ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی استفاده کرد. سجادی و

همکاران (Sajadi *et al*., 2012) نیز تفاوت فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ژنوتیپ‌های گلرنگ را گزارش نموده‌اند.

نتایج نشان داد در اثر برهمکنش محلول‌پاشی و تیمار کم‌آبیاری بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به تیمار محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و ۵۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ و سپس مربوط به تیمار محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک و ۵۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ و کمترین آن مربوط به تیمار بدون محلول‌پاشی و تیمار۱۰۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ بود به‌طوری‌که فعالیت آنتی‌اکسیدانی در اثر برهمکنش محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و تیمار ۵۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ ۱۰/۹۱ درصد در مقایسه با تیمار بدون محلول‌پاشی و تیمار ۱۰۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ افزایش یافت (جدول ۵).

اسید آسکوربیک ترکیبی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی بوده و به‌عنوان ماده اولیه در مسیرهای چرخه‌ای، برای سمیت‌زدایی و خنثی کردن رادیکال‌های سوپراکسید و اکسیژن منفرد نقش دارد. همچنین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان ثانویه در باز چرخ آلفا توکوفرول و دیگر آنتی‌اکسیدان‌های چربی‌دوست، نقش ایفا می‌کند و موجب افزایش میزان فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌شود (Vwioko *et al*., 2008). در سال‌های اخیر بسیاری از گزارش‌ها نشان می‌دهد که کاربرد خارجی اسید آسکوربیک در حفاظت از گیاهان در تنش‌های زیست‌محیطی مانند تنش شوری و خشکی نقش دارد. مشاهده شده که کاربرد خارجی اسید آسکوربیک به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان می‌تواند اثرات زیان‌آور ناشی از تنش شوری را در گیاه کلزا (*Brassica napus*) کاهش دهد و سبب بهبود رشد گیاه و افزایش عملکرد دانه در شرایط تنش شوری در مقایسه با گیاهان شاهد شود (Dolatabadian *et al*., 2009).

اسید جاسمونیک یک مولکول پیام‌رسان ثانویه گیاهی است که طیف گسترده‌ای از واکنش‌های گیاهی را تحت تأثیر قرار داده و موجب افزایش بیان ژن‌های متابولیت‌های ثانویه با خواص آنتی‌اکسیدانی می‌شود و سطح ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد و موجب تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه می‌شود (Mahmood *et al*., 2012). گزارش شده کاربرد خارجی اسید جاسمونیک از طریق افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی موجب کاهش رادیکال‌های آزاد اکسیژن ناشی از تنش خشکی می‌شود (Mahmood *et al*., 2012).

فنول کل، فلاونوئید کل، فنیل آلانین آمونیالیاز

اثرهای ساده تیمار کم‌آبیاری، ژنوتیپ و محلول‌پاشی بر میزان فلاونوئید کل، فنول کل و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) معنی‌دار شد (جدول ۲) و میزان فلاونوئید کل و فنول کل و میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز تحت تأثیر برهمکنش تیمار کم‌آبیاری× ژنوتیپ (جدول ۴) و میزان فنول کل و فلاونوئید کل تحت تأثیر برهمکنش تیمار کم‌آبیاری × محلول‌پاشی نیز قرار گرفتند (جدول ۵). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در تیمار کم‌آبیاری بیشترین میزان فلاونوئید کل و فنول کل به‌ترتیب مربوط به ژنوتیپ سینا و فرامان و تیمار آبیاری ۵۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ بود و کمترین میزان صفات مذکور مربوط به ژنوتیپ محلی اصفهان و تیمار ۱۰۰ درصد نیاز آبیاری گیاه گلرنگ بود (جدول ۴) به‌طوری‌که میزان فنول و فلاونوئید کل در ژنوتیپ سینا و تیمار ۵۰ درصد نیاز آبیاری به‌ترتیب ۵۰/۳۵ درصد و ۴۰/۲۳ درصد در مقایسه با ژنوتیپ محلی اصفهان و تیمار آبیاری ۱۰۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ افزایش یافت (جدول ۴). بیشترین میزان فلاونوئید و فنول کل مربوط به تیمار محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و تیمار ۵۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ و کمترین میزان آن مربوط به تیمار بدون محلول‌پاشی و تیمار ۱۰۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ بود (جدول ۵). به‌طوری‌که میزان فنول کل در تیمار محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و تیمار ۵۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ ۴۴/۳۹ درصد در مقایسه با تیمار بدون محلول‌پاشی و تیمار ۱۰۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ افزایش یافت (جدول ۵). همچنین میزان فلاونوئید کل در تیمار محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و تیمار ۵۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ و در اثر محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک و تیمار ۵۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ به‌ترتیب ۵۵/۳۲ درصد و ۵۴/۱۴ درصد در مقایسه با تیمار بدون محلول‌پاشی و تیمار ۱۰۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ افزایش یافت (جدول ۵).

بیشترین میزان فنیل آلانین آمونیالیاز مربوط به ژنوتیپ سینا و تیمار آبیاری ۵۰ درصد نیاز آبیاری و کمترین میزان آن مربوط به ژنوتیپ محلی اصفهان و تیمار ۱۰۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ بود (جدول ۴) به‌طوری‌که میزان فنیل آلانین آمونیالیاز در ژنوتیپ سینا و تیمار آبیاری ۵۰ درصد نیاز آبیاری ۲۶/۱۸ درصد در مقایسه با تیمار ۱۰۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ و ژنوتیپ محلی اصفهان افزایش یافت (جدول ۴). میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز در تیمار ۵۰ درصد نیاز آبیاری و ژنوتیپ سینا با ژنوتیپ فرامان و تیمار ۵۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۴). در اثر محلول‌پاشی بیشترین میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز به‌ترتیب مربوط به محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک و کمترین آن مربوط به تیمار بدون محلول‌پاشی بود. به‌طوری‌که میزان فعالیت آنزیم مذکور در اثر محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و اسید جاسمونیک به‌ترتیب ۱۵/۰۹ درصد و ۱۰/۵۰ درصد در مقایسه با تیمار بدون محلول‌پاشی افزایش یافت (جدول ۳).

تحت شرایط تنش خشکی میزان تولید ترکیباتی مانند اسید جاسمونیک افزایش می‌یابد (Edwards *et al*., 1985; Campbell and Ellis, 1992) و این ترکیب به‌عنوان یک پیام‌بر ثانویه موجب فعال شدن ژن‌های آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) می‌شود (Koukal and Conn, 1961). این آنزیم نقش کلیدی در جهت

تنظیم ساخت ترکیبات فنیل پروپانوئیدی دارد به‌طوری‌که آنزیم PAL موجب تجزیه ترکیبات غیر اکسیداتیو فنیل آلانین به ترانس سینامیک اسید و آمونیاک می‌شود. ترانس سینامیک اسید به‌عنوان پیشگام برای مسیرهای تولید ترکیبات لیگنینی و فلاونوئیدی است که مسیر بسیار پیچیده‌ای است (Ritter and Schulz, 2004). گزارش شده افزایش فعالیت آنزیم فنیل الانین آمونیالیاز با افزایش ترکیبات فنیل پروپانوئیدی همبستگی دارد (Ozeki and Komamine, 1985). در پژوهش حاضر نیز به نظر می‌رسد افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز موجب افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند فنول و فلاونوئید کل شده است.

در این پژوهش اسید آسکوربیک موجب افزایش فعالیت آنزیم PAL و افزایش میزان فنول و فلاونوئید کل شد. با توجه به این که فعالیت آنزیم PAL تحت تأثیر pH محیط قرار می‌گیرد، بنابراین ترکیبی مانند اسید آسکوربیک با افزایش آنزیم PAL، واکنش‌های مسیر فنیل پروپانوئید را تحریک کرده و باعث افزایش ترکیبات فنولی شده است (Winkle-Shirley, 2001). گزارش شده که کاربرد خارجی اسید آسکوربیک موجب افزایش فنول کل و فلاونوئید کل در ژنوتیپ‌های مختلف گیاه ذرت (*Zea mays*) می‌شود (Salama *et al*., 2013).

عملکرد دانه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تنش کم‌آبیاری، ژنوتیپ و محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و اسید جاسمونیک بر عملکرد دانه معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین عملکرد دانه از تیمار آبیاری ۱۰۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ و کمترین آن از تیمار آبیاری ۵۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ به‌دست آمد (جدول ۳). عملکرد دانه در تیمار۵۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ ۱۴/۱ درصد در مقایسه با تیمار۱۰۰ درصد نیاز آبی کاهش یافت (جدول ۳).

بین ژنوتیپ‌های گلرنگ نیز از نظر عملکرد دانه تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد وجود داشت (جدول ۲). به‌طوری‌که بیشترین عملکرد دانه (۱۶۸۷ کیلوگرم در هکتار) و کمترین آن (۱۳۴۱ کیلوگرم در هکتار) به‌ترتیب مربوط به ژنوتیپ سینا و ژنوتیپ محلی اصفهان بود (جدول ۳). بین ژنوتیپ محلی اصفهان و فرامان نیز از نظر عملکرد دانه تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول ۳).

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در اثر محلول‌پاشی بیشترین عملکرد دانه گلرنگ به‌ترتیب به میزان ۱۵۴۲ و ۱۵۳۷کیلوگرم در هکتار مربوط به تیمار محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک و کمترین آن ۱۴۵۰ کیلوگرم در هکتار مربوط به تیمار بدون محلول‌پاشی بود (جدول ۳) به‌طوری‌که در تیمار محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک عملکرد دانه ۵/۹ درصد در مقایسه با تیمار بدون محلول‌پاشی افزایش یافت (جدول ۳).

کاهش عملکرد دانه تحت تأثیر تیمار کم‌آبیاری در گیاه گلرنگ به دلیل افزایش رقابت بین گیاهان برای آب و کاهش تعداد شاخه‌های فرعی، تعداد غوزه و وزن هزار دانه گیاه است (Khalili *et al*., 2016). همچنین کم‌آبیاری باعث ایجاد تنش اکسیداتیو و اختلال در ساختار کلروپلاست و کاهش محتوای کلروفیل شده و در نتیجه منجر به کاهش فعالیت فتوسنتزی و عملکرد دانه گیاه شده است (Amini and Bahrami, 2013). بین ژنوتیپ‌های گلرنگ تفاوت‌های معنی‌داری از نظر عملکرد دانه در واحد سطح گزارش شده است (Behdani and Jami Al-Mahdi, 2010). علت افزایش عملکرد دانه تحت تأثیر محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک و اسید آسکوربیک احتمالاً به علت خواص آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات بوده که موجب کاهش اختلال در ساختار کلروپلاست و بهبود محتوای کلروفیل شده و با بهبود فتوسنتز در مقایسه با شرایط تنش خشکی موجب افزایش تخصیص مواد فتوسنتزی به آغازه‌های رویشی شاخه‌ها شده و تعداد شاخه‌ها افزایش یافته و زمینه را جهت افزایش تعداد غوزه و حفظ غوزه‌ها در بوته گلرنگ فراهم نموده، همچنین از سقط دانه‌ها جلوگیری کرده و طول دوره پر شدن دانه را نیز افزایش داده و در نهایت با توجه به موارد بیان شده این ترکیبات (اسید جاسمونیک و اسید آسکوربیک) موجب افزایش عملکرد دانه شده‌اند. عرب و همکاران (Arab *et al*., 2016) گزارش کردند که محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک موجب افزایش عملکرد دانه در گیاه گلرنگ شد. همچنین مرادی توچالی و همکاران (Moradi Tochali *et al*., 2017) گزارش کردند که که محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک موجب افزایش درصد روغن و عملکرد دانه در گیاه بادام زمینی (*Arachis hypogaea*) شد. گزارش شده که محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک موجب افزایش عملکرد دانه گلرنگ می‌شود (Ghassemi-Golezani and Hosseinzadeh, 2015).

عملکرد روغن

اثرهای ساده تیمار کم‌آبیاری، ژنوتیپ و محلول‌پاشی بر میزان عملکرد روغن معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنش کم‌آبیاری موجب کاهش عملکرد روغن شد به‌طوری‌که بیشترین عملکرد روغن (۴۳۰ کیلوگرم در هکتار) مربوط به تیمار ۱۰۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ و کمترین میزان عملکرد روغن (۳۳۵ کیلوگرم در هکتار) مربوط به تیمار ۵۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ شد (جدول ۳). میزان عملکرد روغن در ژنوتیپ سینا، فرامان و محلی اصفهان متفاوت بود، به‌طوری‌که بیشترین عملکرد روغن (۴۶۲ کیلوگرم در هکتار) مربوط به ژنوتیپ سینا و کمترین آن (۳۳۲ کیلوگرم در هکتار) مربوط به ژنوتیپ محلی اصفهان شد (جدول ۳).

به‌طوری‌که میزان عملکرد روغن در ژنوتیپ سینا در مقایسه با ژنوتیپ محلی اصفهان ۲۸/۱۳ درصد بیشتر بود (جدول ۳). بیشترین عملکرد روغن به‌ترتیب مربوط به تیمار محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک و کمترین آن مربوط به تیمار بدون محلول‌پاشی بود (جدول ۳) به‌طوری‌که در تیمار محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک میزان عملکرد روغن به‌ترتیب ۱۱/۵۳ درصد و ۱۰/۶۷ درصد در مقایسه با تیمار بدون محلول‌پاشی افزایش یافت (جدول ۳).

در این پژوهش مشاهده شد که تنش کم‌آبیاری موجب کاهش عملکرد روغن شد، به نظر می‌رسد که تنش کم آبیاری موجب کاهش سنتز مواد فتوسنتزی شده بنابراین آسمیلات کمتری به اجزای تشکیل‌دهنده عملکرد دانه مانند وزن هزار دانه، تعداد غوزه در بوته، تعداد دانه در غوزه اختصاص یافته که در نهایت موجب کاهش عملکرد دانه شده است و همچنین به نظر می‌رسد به دلیل این‌که با کاهش رطوبت مورد نیاز گیاه، دوره پرشدن دانه کوتاه شده، بنابراین، مدت زمان لازم برای ذخیره‌سازی روغن در دانه، کاهش یافته است و با در نظر گرفتن این‌که عملکرد روغن از حاصل‌ضرب عملکرد دانه و درصد روغن به‌دست می‌آید و با توجه به این‌که تحت شرایط تنش کم‌آبیاری عملکرد دانه ژنوتیپ سینا و فرامان در مقایسه با ژنوتیپ محلی اصفهان کاهش کمتری داشته است، بنابراین عملکرد روغن ژنوتیپ سینا و فرامان در مقایسه با ژنوتیپ محلی اصفهان بیشتر شده است. در آزمایشی که با تیمارهای سطوح مختلف آبیاری بر اساس ۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد نیاز آبیاری بر روی گلرنگ انجام گرفت، بیشترین عملکرد روغن به مقدار (۴۰۷ کیلوگرم در هکتار) با تأمین ۱۰۰ درصد نیاز آبیاری و کمترین عملکرد روغن نیز به مقدار (۲۹۷/۷ کیلوگرم در هکتار) با تأمین ۵۰ درصد نیاز آبیاری گیاه به‌دست آمد (Ferasat *et al.*, 2008). با توجه به اینکه محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و اسید جاسمونیک موجب افزایش عملکرد دانه شد بنابراین به احتمال زیاد یکی از دلایل مهم افزایش عملکرد روغن به علت افزایش عملکرد دانه بوده است.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک و اسید آسکوربیک بر برخی از صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، عملکرد دانه و روغن ژنوتیپ‌های گلرنگ تحت تنش کم آبی

Table 2. Results of variance analysis effect of foliar application with jasmonic acid and ascorbic acid on some physiological trait, biochemical traits, grain yield and oil yield of safflower genotypes under deficit irrigation

منبع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square فعالیت آنتی‌اکسیدان کل Antioxidant activity	فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز Phenylalanine ammonia lyase	فلاونوئید کل Total flavonoid	فنول کل Total phenol	عملکرد دانه Grain yield	عملکرد روغن Oil yield
Rep. تکرار	2	245.19	121.76	105.1	367.33	11037.97	3815.38
تنش آبی Water stress	2	390.79**	1677.79**	99.87**	676.3**	350746.004**	31979.66**
Ea اشتباه اصلی	4	18.79	5.65	1.34	4.5	21106.64	3234.55
Genotype ژنوتیپ	2	722.27**	165.57**	32.45**	376.84**	821163.43**	112202.11**
ژنوتیپ × تنش آبی Water stress ×Genotype	4	12.12ns	9.81**	3.41*	29.78**	11456.11ns	1221.95ns
Eb اشتباه فرعی	12	12.18	3.46	0.79	2.81	13458.006	659.43
محلول‌پاشی Foliar application	2	566.83**	57.2**	84.22**	136.51**	158694.01**	18898.04**
ژنوتیپ × محلول‌پاشی Foliar application×Genotype	4	8.74ns	1.80ns	2.29ns	1.43ns	12618.61ns	2717.55ns
کم‌آبی× محلول‌پاشی Foliar ×Water stress application	4	41.31*	0.58ns	4.75**	2.59ns	14879.74ns	460.16ns
تنش کم‌آبیاری× محلول‌پاشی×ژنوتیپ Foliar ×Water stress Genotype ×application	8	3.6ns	2.21ns	1.68ns	1.96ns	13545.76ns	1025.09ns
Eb اشتباه فرعی فرعی	36	2.5	1.36ns	1.12	1.35	12783.49	1194.49
CV (%) ضریب تغییرات		5.1	6.6	12.8	4.7	7.5	8.6

ns عدم تفاوت معنی‌دار، * و ** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

ns, * and **: Not-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات اصلی تنش کم‌آبیاری و محلول‌پاشی بر برخی از صفات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی، عملکرد روغن و دانه ژنوتیپ‌های گلرنگ

Table 3- Mean comparison of main effect of deficit irrigation and foliar application on some physiological trait, biochemical traits, oil yield and grain yield of safflower genotypes

تیمار Treatment	فعالیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant activity (Percent inhibition of linoleic acid)	فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز Phenylalanine ammonia lyase (μmol. g^{-1} FW. Min)	فنول کل Total phenol (mg GA. g^{-1} dw)	فنول کل Total phenol (mg GA. g^{-1} dw)	عملکرد دانه Grain yield ($kg.ha^{-1}$)	عملکرد روغن Oil yield ($kg.ha^{-1}$)
Water stress تنش آبی						
تیمار آبیاری ۱۰۰ درصد نیاز آبیاری 100% water requirement	66.77b	10.19c	6.16c	19.51c	1609.27a	430.03a
تیمار آبیاری ۷۵ درصد نیاز آبیاری 75% water requirement	82.98a	16.56b	8.31b	24.36b	1513.29a	404.48b
تیمار آبیاری ۵۰ درصد نیاز آبیاری 50% water requirement	93.69a	26.06a	10.19a	29.74a	1382.22c	335.14c
Genotype ژنوتیپ						
Faraman فرامان	71.80b	17.36b	8.33b	24.56b	1476.35b	401.59b
Local Isfahan محلی اصفهان	65.62c	15.38c	7.17c	21.93c	1341.21c	333.03c
Sina سینا	75.13a	20.08a	9.18a	28.39a	1687.24a	462.18a
Foliar application محلول‌پاشی						
بدون محلول‌پاشی Without foliar application	65.86c	16.09c	6.31c	22.39c	1450.18c	368.92b
محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک Foliar application with jasmonic acid	73.77a	17.78b	8.83b	25.08b	1537.53b	412.07a
محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک Foliar application with ascorbic acid	73.93a	18.95a	9.53a	26.42a	1542.09a	416.66a

میانگین‌های هر ستون که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.
Means followed by the similar letters have not significant differences by Duncan test.

جدول ٤- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار آبیاری و ژنوتیپ بر برخی از صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، عملکرد دانه و عملکرد روغن

Table 4- mean comparison of interaction of deficit irrigation and genotype on some physiological trait, biochemical traits, oil yield and grain yield

Treatment تیمار		Trait صفات		
آبیاری Irrigation	ژنوتیپ Genotype	فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز Phenylalanine ammonia lyase (μmol.g^{-1} FW. Min)	فلاونوئید کل Total flavonoid (mg quercetin. Gr^{-1} dw)	فنول کل Total phenol (mg GA. g^{-1} dw)
۱۰۰ درصد نیاز آبیاری 100% water requirement	Sina سینا	11.38f	6.65e	20.94d
	Faraman فرامان	10.80f	6.59e	20.1d
	Local Isfahan محلی اصفهان	8.4g	5.25f	17.6e
۷۵ درصد نیاز آبیاری 75% water requirement	Sina سینا	20.28c	8.87c	28.79b
	Faraman فرامان	16.07d	8.57c	24.23c
	Local Isfahan محلی اصفهان	13.34e	7.51d	20.88d
۵۰ درصد نیاز آبیاری 50% water requirement	Sina سینا	28.57a	12.07a	35.45a
	Faraman فرامان	25.21b	9.77b	29.45b
	Local Isfahan محلی اصفهان	24.4b	8.74c	24.33c

میانگین‌های هر ستون که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.
Means followed by the similar letters have not significant differences by Duncan test.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارکم‌آبیاری و محلول‌پاشی بر برخی از صفات بیوشیمیایی

Table 5- Mean comparison of interaction of deficit irrigation and foliar application on some biochemical traits

Treatment تیمار		Trait صفات		
آبیاری Irrigation	محلول‌پاشی Folier application	فعالیت آنتی‌اکسیدان Antioxidant activity (Percent inhibition of linoleic acid)	فنول کل Total phenol (mg GA. gr^{-1} dw)	فلاونوئید کل Total flavonoid (mg quercetin. g^{-1} dw)
۱۰۰ درصد نیاز آبیاری 100%water requirement	بدون محلول‌پاشی Without foliar application	54.68f	17.58g	5.24f
	محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک Foliar application with ascorbic acid	69.38e	20.83f	7.01d
	محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک Foliar application with jasmonic acid	78.78c	20.14f	6.23e
۷۵ درصد نیاز آبیاری 75%water requirement	بدون محلول‌پاشی Without foliar application	76.49d	22.60e	6.16e
	محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک Foliar application with ascorbic acid	86.14a	26.73c	9.86b
	محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک Foliar application with jasmonic acid	84.23b	24.56d	8.92c
۵۰ درصد نیاز آبیاری 50% water requirement	بدون محلول‌پاشی Without foliar application	78.57c	27.06c	7.53d
	محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک Foliar application with ascorbic acid	86.85a	31.69a	11.73a
	محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک Foliar application with jasmonic acid	84.70b	30.54b	11.32a

میانگین‌های هر ستون که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means followed by the similar letters have not significant differences by Duncan test.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که تحت تنش کم‌آبیاری ۵۰ درصد نیاز آبیاری گلرنگ بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز، فنول کل، فلاونوئید کل و محتوای آنتوسیانین مربوط به ژنوتیپ سینا و کمترین صفات مذکور مربوط به ژنوتیپ محلی اصفهان بود. همچنین محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک و اسید آسکوربیک فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز، فنول کل، فلاونوئید کل و محتوای آنتوسیانین، عملکرد دانه و عملکرد روغن را افزایش داد. بنابراین با توجه به نتایج این پژوهش انتخاب ژنوتیپ متحمل به تنش کم‌آبیاری و محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک و اسید آسکوربیک می‌تواند موجب تعدیل آثار نامطلوب تنش کم‌آبیاری شده و در بهبود عملکرد دانه و عملکرد روغن موثر باشد.

References

1. Amini, H., Arzani, A., and Bahrami, F. 2013. Seed yield and some physiological traits of safflower as affected by water deficit stress. International Journal of Plant Production 7 (3): 598-614.
2. Arab, S., Baradaran Firouzabadi, M., Asghari, H., Gholami, A., and Rahimi, M. 2016. The effect of ascorbic acid and sodium nitroprusside foliar application on seed yield, oil and some agronomical traits of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under water deficit stress. Environmental Stresses Crop Sciences 9 (1): 15-27. (in Persian with English abstract).
3. Asqarpanh, J., and Kazemivash, N. 2013. pharmacology and medicinal properties of (*Carthamus tinctorius* L.). Chines Journal of integrative Medicine 19 (2): 53-59.
4. Behdani, M., and Jami Al-Mahdi, M. 2010. Response of Spring Safflower Cultivars to Irrigation Intervals in Birjand Condition. Iranian Journal Field Crops Research 8 (2): 315-335. (in Persian with English abstract).
5. Bagal, U. R., Leebens mack, J. H., Walter Lorenz, W., and Dean, J. F. D. 2012. The phenylalanine ammonia lyase (PAL) gene family shows a gymnosperm specific line age. BioMed Central Genomics 13 (3): 1471-2164.
6. Bari, R., and Jones, J. D. 2009. Role of plant hormones in plant defense responses. Plant Molecular Biology 69: 473-488.
7. Campbell, M. M., and Ellis, B. E. 1992. Fungal elicitor-mediated responses in pine cell cultures: III. Purification and characterization of phenylalanine ammonia-lyase. Plant Physiology 98: 62-70.

8. Chen, Y., Xie, M. Y., and Gong, X. F. 2007. Microwave-assisted extraction used for the isolation of total triterpenoid saponins from Ganoderma atrum. Journal of Food Engineering 81: 162-170.
9. Creelman, R. A., and Mullet, J. E. 1995. Jasmonic acid distribution and action in plants: regulation during development and response to biotic and abiotic stress. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 92: 4114-4119.
10. Daneshmand, F. 2014. The effect of ascorbic acid on reduction of oxidative stress caused by salinity in potato. Journal of Plant Researches 27 (3): 417-426.
11. Dixon, R. A., Ferreira, D., and Genistein, S. 2002. The phenylpropanoid pathway and plant defense - a genomics perspective. Molecular Plant Pathology 3: 371-390.
12. Dolatabadian, A., Modares Sanavy, A. M., and Asilan, K. 2009. Effect of ascorbic acid foliar application on yield, yield component and several morphological traits of grain corn under water deficit stress conditions. Journal of Notulae Scientia Biologicae 2 (3): 45-50.
13. Ebrahimzadeh, M., Hosseinimehr, S., Hamidinia, A., and Jafari, M. 2008. Antioxidant and free radical scavenging activity of Feijoa sallowiana fruits peel and leaves. Pharm ecology online 1: 7-14.
14. Edwards, K., Cramer, C. L., Bolwell, G. P., Dixon, R. A., Schuch, W., and Lamb, C. J. 1985. Rapid transient induction of phenylalanine ammonia-lyase mRNA in elicitor-treated bean cells. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 82: 6731-6735.
15. Fanaie, H. M., Keikha, H., and Piri, E. 2015. Effect of seed priming on grain and oil yield of Safflower under irrigation deficit conditions. Iranian Journal of Seed Science and Research 2 (2): 49-59. (in Persian with English abstract).
16. Farshi, A. A. 2003. Irrigation Water Management at the Field. Iranian National Committee on Irrigation and Drainage. Ahvaz. (Persian Book).
17. Ferasat, M., Sajadi, M. A., Mirzakhani, M. 2008. Response of agriculture traits to drought stress condition in four safflower genotypes. New Finding in Agriculture 3: 67-81.
18. Ghassemi-Golezani, K., and Hosseinzadeh-Mahootchi, A. 2015. Improving physiological performance of safflower under salt stress by application of salicylic acid and jasmonic acid. Walia Journal 31: 104-109.
19. He, Q., and Luo, Y. 2007. Enzymatic browning and its control in fresh-cut produce. Stewart Postharvest Review 3: 123-132.
20. Hernandez, I., Alegre, L., and Munne-Bosch, S. 2004. Drought-induced changes in flavonoids and other low molecular weight antioxidants in Cistus chisii grown under Mediterranean field conditions. Tree Physiology 24: 1303-1311.
21. Kartal, N., Sokmen, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., and Sokmen, A. 2007. Investigation of the antioxidant properties *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. Food Chemistry 100 (2): 584-589.
22. Khalili, M., Naghavi, M. R., and Pour-Aboughadareh, A. 2016. Evaluation of Grain Yield and Some of Agro-Morphological Characters in Spring Safflowers Genotypes under Irrigated and Rainfed Conditions. Journal of Crop Breeding 7 (16): 139-138. (in Persian with English abstract).
23. Koukal, J., and Conn, E. E. 1961. The metabolism of aromatic compounds in higher plants. IV. Purification and properties of the phenylalanine deaminize of Hordeum vulgar. Journal of Biological Chemistry 236: 2692-2698.
24. Mahabub Alam, M. D., Kamrun, N., Hasanuzzaman, M., and Masayuki, F. 2014. Exogenous jasmonic acid modulates the physiology, antioxidant defense and glyoxalase systems in imparting drought stress tolerance in different Brassica species. Journal of Plant Biotechnology Reports 8: 279-293.
25. Mahmood, M., Bidabadi, S. S., Ghobadi, C., and Gray, D. J. 2012. Effect of methyl jasmonate treatments on alleviation of polyethylene glycol-mediated water stress in banana (*Musa acuminata*) shoot tip cultures. Plant Growth Regulation 68: 161-169.
26. Marinova, D., Ribarov, F., and Atanassova, M. 2005. Total phenolic and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy 40 (3): 255-260.
27. Miller, G., Suzuki, N., and Ciftci-Yilmaz, S. 2010. Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses. Plant Cell and Environment 33: 453-467.
28. Mittler, R. 2004. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science 7: 405-410.
29. Moradi Tochali, M., Seiphzade, S., Zakerin, H. M., and Valadabadi, A. R. 2017. Investigation the effect of methanol and ascorbic acid foliar application on growth and yield of peanut (*Arachis hypogaea* L.). Crop Physiology Journal 9 (36): 65-82. (in Persian with English abstract).
30. Ozeki, Y., and Komamine, A. 1985. Changes in activities of enzymes involved in general phenylpropanoid metabolism during the induction and reduction of anthocyanin synthesis in a carrot suspension culture as regulated by 2,4-D. Plant Cell Physiology 26: 903-911.
31. Ramishkrishna, A., Ravishankar, G. A. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolitis in plant. Journal of plant Signaling and Behavior 6: 1720-1731.

32. Ritter, H., and Schulz, G. E. 2004. Structural basis for the entrance into the phenylpropanoid nucleic metabolism catalyzed by phenylalanine ammonia-lyase. Plant Cell 16 (12): 3426-3436.
33. Sajadi, N. M., Ferasat, M., and Mirzakhani, M. 2012. Impact of water deficit stress on biochemical characteristics of safflower cultivars. Physiology and Molecular Biology of Plants 18 (4): 323-329.
34. Salama Zeinab, A., El-Fouly, M. M., and Gaafor, A. A. 2013. Mitigation of the adverse effect of salinity through stimulation some secondary metabolites and antioxidant enzymes of metabolic extract of maize cultivars by exogenous ascorbic acid. Journal of food, Agriculture of Environment 11: 1328-1335.
35. Schaller, F. 2001. Enzymes of the biosynthesis of octadecanoid-derivedsignaling molecules. Journal Experimental Botany 52: 11-23.
36. Sio- Se Mardeh, A., Ahmadi, A., Poustini, K., and Mohammadi, V. 2006. Evaluation of drought resistance indices under various environmental conditions. Field Crop Research 98: 222-229.
37. Vwioko, E. D., Osawaru, M. E., and Erugun, O. L. 2008. Evaluation of okro (*Abelmoschus esculentus* L. Moech). Exposed to paint waste contaminated soil for growth, ascorbic acid and metal concentration. African Journal of General Agriculture 4 (1): 39-48.
38. Wang, J. W., Zheng, L. P., Wu, J. Y., and Tan, R. Y. 2006. Involvement of nitric oxide in oxidative burst, phenylalanine ammonia-lyase activation and Taxol production induced by low-energy ultrasound in Taxus yunn an ensiscell suspension cultures. Journal of Nitric Oxide 15: 351-358.
39. Winkle-Shirley, B. 2001. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. Plant Physiology 126: 485-493.
40. Zhao, J., Davis, L. C., Verpoorte, R. 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. Biotechnology Advances 23 (4): 283-333.

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 17, No. 4, Winter. 2020, p. 591-603

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۷، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۸، ص. ۶۰۳-۵۹۱

Effect of Deficit Irrigation Regimes and Foliar Application of Jasmonic Acid and Ascorbic Acid on Some Secondary Metabolites, Oil Yield and Grain Yield of Safflower Genotypes

F. Mohtashamii[1], M. R. Tadayon[2*], P. Roshandel[3]

Received: 21-12-2018
Accepted: 01-09-2019

Introduction

Safflower is an annual plant native to the Mediterranean countries and cultivated in Europe and U.S. Safflower petals are very important as a source of medicinal preparations, natural food color and dyes for coloring fabrics. Water deficit stress severely limits crop growth especially in arid and semiarid regions of the world as it affects all stages of plant growth and development. Exposure to environmental stresses such as drought stress, heat stress, cold stress, salt stress and plant diseases often leads to the production of reactive oxygen species and other toxic compounds that diminish a plant’s performance. Reactive oxygen species (ROS) are highly toxic to plant cells and in an absence of any protective mechanism they can react with proteins, lipids and DNA and this can inactivate an antioxidant defense system. Plants have an elaborate system of enzymatic and non-enzymatic scavenging pathways or detoxification systems that working together function as an extremely efficient system to counter the deleterious effects of ROS. Higher plants have active oxygen-scavenging systems consisting of several antioxidant enzymes, and some low molecules of non-enzyme antioxidants, such as phenolic compounds, flavonoids, anthocyanins and ascorbic acid. Water deficit is considered to be a major abiotic factor affecting many aspects of plant physiology and biochemistry causing a significant reduction in agricultural production and changes its behavior regarding the biosynthesis of bioactive compounds such as phenolic compounds, flavonoids and anthocyanins in safflower. Ascorbic Acid is a major metabolite in plants. It is an antioxidant, in association with other components of the antioxidant system, protects plants against oxidative damage resulting from aerobic metabolism. Jasmonic acid (JA) is a plant-signaling molecule that shows a wide range of plant responses, with effects at the morphological to molecular levels. Many morphological, physiological, and biochemical processes occurring within the plants can be regulated by jasmonic acid. Previous studies have documented that foliar application of JA and ascorbic acid could modulate plant physiological responses towards abiotic stress tolerance. Considering the importance of safflower plant in terms of quantity and quality of oil, and its various applications in the oil, dyeing and pharmaceutical industries in the semi-arid regions of the world, it seems that increasing yield per unit area in low-irrigated conditions is a good way to increase the production of this plant and improve the economic conditions of farmers. Compared to breeding methods that are often long-term and costly, some agricultural management practices, such as the use of chemicals like ascorbic acid, jasmine acid and other compounds, are easier, cheaper and faster. Therefore, the aim of this study was to determine the effects of jasmonic acid and ascorbic acid on grain yield and Changes in antioxidant compounds of safflower genotypes under drought stress conditions.

Materials and Methods

This experiment was carried out as a split-split plot in a completely randomized block design with three replications at Shahrekord University Agricultural Research Station during spring planting season 2017. The main plots consisted of three levels of irrigation of 100%, 75% and 50% of the plant's water requirement of safflower and sub-plots including safflower genotypes including Sinai, Isfahan local and Faramanand sub-sub sub-plots including foliar application with three levels including (control, foliar application of jasmonic acid with 0.5mM concentration and foliar application of ascorbic acid with 20 mM concentration. In this study, the amount of total flavonoid, total phenol, antioxidant activity, ammonialase enzyme activity, grain yield and oil yield were measured.

Results and Discussion

The results showed that simple effects of low irrigation treatment, genotype and foliar application were significantly in all traits studied in this study. The highest grain yield (1609 $kg.ha^{-1}$) and oil yield (430 $kg.ha^{-1}$) obtained in 100% of the plant's water requirement and the least of grain yield (1382 $kg.ha^{-1}$) and oil yield (335 $kg.ha^{-1}$) obtained in 50% of the plant's water requirement. The interaction of genotype × deficit irrigation

1- PhD student, Agronomy Department, Agriculture Faculty, Shahrekord University
2- Associate Professor, Agronomy Department, Agriculture Faculty, Shahrekord University
3- Assistant Professor, Agronomy Department, Agriculture Faculty, Shahrekord University
(*- Corresponding Author Email: Mrtadayon@yahoo.com)

treatments on total phenol content, total flavonoid content, phenylalanine ammonialase enzyme activity and oil yield as well as interaction of low irrigation treatment × foliar application on the amount of antioxidant activity, total phenol, total flavonoid content were significant. The results show that the highest total phenol content (35.4 mg GA. g^{-1} DW), total flavonoid content (12.1 mg quercetin .g^{-1} DW), phenylalanine ammonialase enzyme activity (28.6 µmol.g^{-1}FW. min) obtained in interaction 50% of the plant's water requirement and sina genotype and the least amount oftotal phenol content (17.6 mg GA. g^{-1} DW), total flavonoid content (5.2mg quercetin . g^{-1}DW), phenylalanine ammonialase enzyme activity (8.4 µmol.g^{-1}FW. min) obtained in interaction 100% of the plant's water requirement and Isfahan genotype. Foliar application with jasmonic acid and ascorbic acid *increased* antioxidant activity, total phenol, total flavonoid, phenylalanine ammonialase enzyme activity, oil yield and grain yield. So that, the highest amount of antioxidant activity (85.9 % inhibition of linoleic acid), total phenol (31.7 mg GA. g^{-1} DW) and total flavonoid (11.7 mg quercetin . g^{-1} DW) related to 50% of the plant's water requirement and foliar application with ascorbic acid and the least amount of antioxidant activity (54.7 antioxidant activity), total phenol (17.6 mg GA. g^{-1}DW) and total flavonoid (5.2 mg quercetin . g^{-1} DW) related to 100% of the plant's water requirement and without foliar application.

Conclusions

Results indicated that deficit irrigation stress could increase antioxidant activity, Phenylalanine ammonia lyase (PAL) activity, Total phenol, total flavonoid and anthocyanin content in safflower genotype but, grain yield decreased. The increase in tolerance to drought in sina genotype is associated with antioxidant enzyme and non-enzyme activity. Also foliar application of jasmonic acid and ascorbic acid increase antioxidant activity, Phenylalanine ammonia lyase (PAL) activity, Total phenol, Total flavonoid, anthocyanin content and grain yield. According to these results, it may be suggested that increased activity of antioxidant enzymes and non-enzymes can reduce the harmful effects of reactive oxygen species and improve plant drought tolerance, therefore antioxidant enzymes and non-enzymes can be taken as indices of drought tolerance in plants.

Keywords: Anthocyanin, Flavonoid, Phenol, Phenylalanine ammonialase